

УДК 581.1

КОМБИНИРОВАННОЕ ВЛИЯНИЕ САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ И ДОНОРА ОКСИДА АЗОТА НА РАЗВИТИЕ ИНДУЦИРОВАННОЙ ЗАКАЛИВАНИЕМ МОРОЗОУСТОЙЧИВОСТИ ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ

© 2020 г. Е. И. Горелова¹, М. А. Шкляревский¹, Н. И. Рябчун²,
Л. Ф. Кабашникова³, Ю. Е. Колупаев^{1,4}

¹Харьковский национальный аграрный университет им. В.В. Докучаева
(Харьков, Украина)

²Институт растениеводства им. В.Я. Юрьева
Национальной академии аграрных наук Украины
(Харьков, Украина)

³Институт биофизики и клеточной инженерии
Национальной академии наук Беларуси
(Минск, Беларусь)

⁴Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина
(Харьков, Украина)

Известно, что салициловая кислота и оксид азота (NO) задействованы в формировании многих адаптивных реакций растений на действие стрессоров различной природы. Есть сведения о том, что обработка растений салициловой кислотой и донорами оксида азота может приводить к повышению их устойчивости к действию низких положительных температур. Вместе с тем, их влияние на устойчивость растений к криострессу исследовано недостаточно. Известно, что некоторые физиологические эффекты салициловой кислоты реализуются с участием NO как сигнального посредника. Однако совместное действие салициловой кислоты и доноров NO на физиологические процессы, обуславливающие формирование морозоустойчивости, до сих пор не изучалось. Исследовали влияние прайминга семян озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) салициловой кислотой и донором NO нитропруссидом натрия (НПН) по отдельности и совместно на формирование морозоустойчивости этиолированных проростков пшеницы при их закаливании при 2-4°C. Показано повышение выживания проростков после промораживания при -6 и -8°C под влиянием салициловой кислоты и НПН. Еще более заметным был протекторный эффект совместной обработки семян салициловой кислотой (10 мкМ) и НПН (100 мкМ). Холодовое закаливание проростков, а также предварительная обработка семян салициловой кислотой, вызывали повышение активности супероксиддисмутазы (СОД), каталазы и гваяколпероксидазы, содержания пролина и сахаров в тканях проростков. Прайминг семян НПН способствовал повышению в проростках пшеницы активности СОД и каталазы, содержания пролина и сахаров. При совместном использовании салициловой кислоты и НПН в проростках отмечалось дополнительное повышение активности СОД и содержания сахаров. Обсуждаются возможные причины усиления стресс-протекторных эффектов салициловой кислоты и донора NO при их сочетанном действии.

Ключевые слова: *Triticum aestivum*, салициловая кислота, оксид азота, морозоустойчивость, антиоксидантная система, осмолиты

DOI: <https://doi.org/10.35550/vbio2020.02.093>

По современным представлениям салициловая кислота относится к ключевым стрессовым гормонам растений (Shakirova et al.,

2013). Она принимает участие в формировании защитных ответных реакций растений не только на биотические, но и абиотические стрессоры (Agarwal et al., 2005; Shakirova et al., 2013; Пашкевич, Кабашникова, 2018). Зарегистрировано повышение ее эндогенного содержания у растений разных видов в ответ на действие гипо- и гипертермии, обезвоживания, засоления и

Адрес для корреспонденции: Колупаев Юрий Евгеньевич, Харьковский национальный аграрный университет им. В.В. Докучаева, п/о Докучаевское-2, Харьков, 62483, Украина;
e-mail: plant_biology@ukr.net

КОМБИНИРОВАННОЕ ВЛИЯНИЕ САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ

других стресс-факторов (Shakirova et al., 2003; Namayun et al., 2010; Kim et al., 2013). Кроме того, экспериментально доказано, что эндогенное содержание этого гормона в листьях ячменя возрастает при обработке растений экзогенными салицилатами (Евдокимова и др., 2014). Показано значение салициловой кислоты для активации у растений ферментативной антиоксидантной системы (Peleg-Grossman, 2012; Hashempour et al., 2014; Wang et al., 2018), накопления совместимых осмолитов (Колупаев и др., 2018; Min et al., 2018), синтеза ряда защитных белков (Kim et al., 2013; Shakirova et al., 2016).

Получены сведения и о положительном влиянии экзогенной салициловой кислоты на процессы холодовой адаптации растений разной таксономической принадлежности. Так, показано усиление салициловой кислотой холодового закаливания пшеницы (Tasgin et al., 2003; Yordanova, Popova, 2007; Wang et al., 2018; Холощцева и др., 2019), шпината (Min et al., 2018) и растений других видов (Pal et al., 2013). Также зарегистрировано повышение под влиянием салициловой кислоты холодоустойчивости кукурузы (Horvath et al., 2007), ячменя (Mutlu et al., 2014), томата (Miura, Tada, 2014), маслин (Hashempour et al., 2014) и других видов растений.

В частности, показано, что обработка проростков пшеницы салициловой кислотой вызывала накопление пероксида водорода и абсцисовой кислоты, выполняющих роль посредников в реализации ее действия как индуктора морозоустойчивости (Wang et al., 2018). При этом салициловая кислота индуцировала повышение активности супероксиддисмутазы (СОД), каталазы и аскорбатпероксидазы в проростках пшеницы. Обработка салициловой кислотой, повышающая устойчивость ячменя к низким температурам, также приводила к увеличению активности антиоксидантных ферментов (Mutlu et al., 2013a). Вызываемое салициловой кислотой повышение резистентности шпината к действию низких температур сопровождалось увеличением содержания аскорбиновой кислоты, токоферола, пролина, трегалозы и других низкомолекулярных протекторных соединений (Min et al., 2018). Прайминг семян кукурузы салициловой кислотой вызывал повышение их всхожести при низких температурах и способствовал увеличению активности антиоксидантных ферментов, а также амилазы и содержания сахаров (Ferooq et al., 2008).

С другой стороны, далеко не все имеющиеся экспериментальные данные позволяют делать заключение о положительной роли салициловой кислоты в развитии холодо- или морозоустойчивости растений. Так, экзогенная салициловая кислота усиливала холодоиндуцируемые повреждения мембран растений риса (Wang et al., 2009). При этом под ее влиянием снижалась активность гваяколпероксидазы и каталазы. Авторы полагают, что, по крайней мере, частично, отсутствие положительного влияния салициловой кислоты может быть связано с высоким эндогенным ее содержанием в органах проростков риса (Wang et al., 2009). Также сообщается о большей морозоустойчивости салицилатдефицитных трансформантов арабидопсиса *NahG* по сравнению с растениями Col-0 (Majláth et al., 2011). Возможно, что отсутствие эндогенной салициловой кислоты у таких растений индуцирует альтернативные сигнальные пути, что также способствует адаптации. В целом же, сведения о роли салициловой кислоты в формировании адаптивных реакций растений разных видов к действию низких температур неоднозначны.

Наряду со стрессовыми фитогормонами в процессах холодовой адаптации растений задействованы сигнальные молекулы, в частности, оксид азота. Так, в условиях гипотермии в органах растений разных видов (*Arabidopsis thaliana*, *Pisum sativum*, *Citrus aurantium*, *Brassica raniflora*, *Triticum aestivum*) зарегистрировано повышение содержания NO (Puyaubert, Baudouin, 2014; Baudouin, Jeandroz, 2015; Fancy et al., 2017; Yemets et al., 2019).

В отдельных работах сообщается о положительном влиянии доноров NO на устойчивость растений к гипотермии. Обработка растений бермудской травы (*Cynodon dactylon*) нитропруссидом натрия (НПН) снижала холодоиндуцируемые окислительные повреждения липидов мембран (Fan et al., 2015). При этом у растений, обработанных донором NO, наблюдались более высокие величины активности СОД, пероксидазы и каталазы, а также усиление экспрессии генов антиоксидантных ферментов. Опрыскивание растений яровой пшеницы растворами НПН способствовало их адаптации к действию низкой положительной температуры, что выражалось в уменьшении проявления индуцируемого холодом окислительного стресса и повышении активности СОД, каталазы и пероксидазы (Esim, Atici, 2015).

Важно, что оксид азота является одним из посредников в реализации физиологических эффектов фитогормонов, в том числе салициловой кислоты. Показано повышение содержания NO в клетках у растений женьшеня (Puyaubert, Baudouin, 2014) и пшеницы (Baudouin, Jeandroz, 2015; Карпец и др., 2016) в ответ на действие салициловой кислоты. В экспериментах с растениями шпината показано, что индуцируемый салициловой кислотой эффект повышения их устойчивости к промораживанию, который сопровождался увеличением содержания аскорбиновой кислоты и пролина, устранялся скавенджером NO 2-phenyl-4,4,5,5-tetramethylimidazole-1-oxyl-3-oxide (PTIO) (Shin et al., 2018). Таким образом, есть основания полагать, что индуцирующее криоустойчивость действие салициловой кислоты на растения может быть опосредовано оксидом азота. В то же время показано, что при других стрессовых воздействиях эффекты NO в качестве сигнальной молекулы могут также реализоваться при посредничестве салициловой кислоты. Например, установлено, что у растений табака, трансформированных геном бактериальной салицилатгидроксилазы (*NahG*), под влиянием донора оксида азота не развивалась резистентность к вирусу табачной мозаики (Song, Goodman, 2001).

В контексте функциональных связей между NO и салициловой кислотой возникает вопрос: может ли происходить усиление ее стресс-протекторных эффектов при сочетании с обработкой растительных объектов донорами оксида азота? В работе Esim и Atici (2015) показано более полное предотвращение последствий холодоиндуцированного (3-дневное действие температур 2–5°C) окислительного стресса у неморозоустойчивого (ярового) сорта пшеницы при фоллиарной обработке комбинацией 1 мМ салициловой кислоты и 0,1 мМ НПН. В то же время сочетанное действие этих соединений на устойчивость растений к отрицательным температурам до сих пор не изучалось. Также отсутствуют данные о комбинированном стресс-протекторном действии салициловой кислоты и донора оксида азота при прайминге семян.

В связи с изложенным, целью работы было сопоставление отдельного и совместного влияния прайминга семян пшеницы салициловой кислотой и НПН на развитие холодоинду-

цированной морозоустойчивости проростков и состояние их антиоксидантной и осмопротекторной систем.

МЕТОДИКА

В работе использовали этиолированные проростки озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Досконала. Семена в течение 40 мин обеззараживали в 6% растворе пероксида водорода и тщательно промывали дистиллированной водой. После этого семена опытных вариантов погружали на 1 ч в растворы салициловой кислоты (1–100 мкМ) или НПН (50–200 мкМ), семена контрольного варианта выдерживали 1 ч в дистиллированной воде.

Семена проращивали в течение 3 суток в темноте при температуре 20–22°C на фильтровальной бумаге, смоченной очищенной водопроводной водой. Затем этиолированные проростки помещали на 6 суток в холодильную камеру (без освещения) с температурой 2–4°C. Оптимальный режим закаливания проростков был выбран на основании результатов экспериментов, проведенных нами ранее (Колупаев и др., 2015). Для сравнения использовали 4-дневные этиолированные проростки, не подвергавшиеся закаливанию. Поскольку при низкой температуре развитие проростков замедлялось, 9-дневные закаленные растения были такими же, как 4-дневные контрольные, выращенные при 20–22°C.

После закаливания проростки подвергали промораживанию в отсутствие света при –6° или –8°C в течение 5 ч в камере «Danfoss» (Нидерланды), снижая температуру со скоростью 1°C/ч. Затем образцы оттаивали, отращивали в течение 3 суток при 20–22°C и освещенности 6 клк и оценивали их выживание.

Сухую массу проростков определяли путем высушивания при температуре 103°C до постоянной массы.

Активность антиоксидантных ферментов – СОД (КФ 1.15.1.1), каталазы (КФ 1.11.1.6) и гваяколпероксидазы (КФ 1.11.1.7) – определяли по методикам, описанным ранее (Колупаев и др., 2015). Навески проростков гомогенизировали на холоде в 0,15 М К₂Na-фосфатном буфере (рН 7,6) с добавлением ЭДТА (0,1 мМ) и дитиотреитола (1 мМ). Для анализа использовали супернатант после центрифугирования гомогената при 8000 g в течение 10 мин при температуре не выше 4°C. Активность СОД определяли, используя метод, основанный на способности фермента конкурировать с нитросиним тетразолием за супероксидные анион-

КОМБИНИРОВАННОЕ ВЛИЯНИЕ САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ

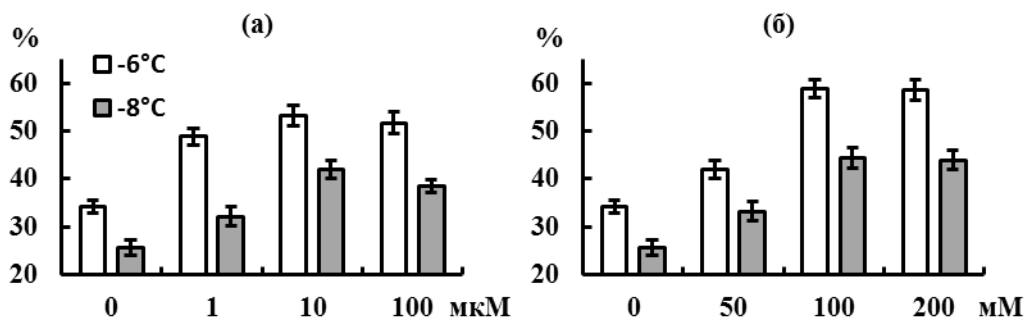


Рис. 1. Выживание (%) закаленных проростков пшеницы, выращенных из семян, обработанных СК (а) или НПН (б) после криостресса.

радикалы, образующиеся вследствие аэробного взаимодействия НАДН и феназинметосульфата. Активность каталазы анализировали по количеству H_2O_2 , разложившегося за единицу времени. Активность гваяколпероксидазы определяли, используя в качестве донора водорода гваякол, а в качестве субстрата – пероксид водорода. Активность СОД и гваяколпероксидазы выражали в усл. ед./г сухой массы × мин), а активность каталазы – в ммоль H_2O_2 /(г сухой массы × мин).

Суммарное содержание сахаров в проростках определяли методом Морриса-Роз с использованием антронового реактива с модификациями, описанными нами ранее (Колупаев и др., 2015) и выражали в мг/г сухой массы. Содержание пролина определяли с использованием нингидринового реактива (Bates et al., 1973), выражая в мкмоль/г сухой массы.

Биологическая повторность опытов 3-4-кратная. На рисунках приведены средние величины и их стандартные ошибки. Кроме случаев, оговоренных специально, обсуждаются различия, достоверные при $P \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Выживание проростков пшеницы после криостресса

Как показали предварительные опыты, незакаленные проростки после промораживания при температуре $-6^\circ C$ практически полностью погибали (результаты не приводятся). В связи с этим действие праймирования семян салициловой кислотой и НПН на морозоустойчивость проростков оценивали только в сочетании с закаливанием.

Обработка семян салициловой кислотой в концентрациях 1-100 мкМ заметно повышала выживание закаленных проростков по сравнению с контролем (рис. 1а). Наиболее суще-

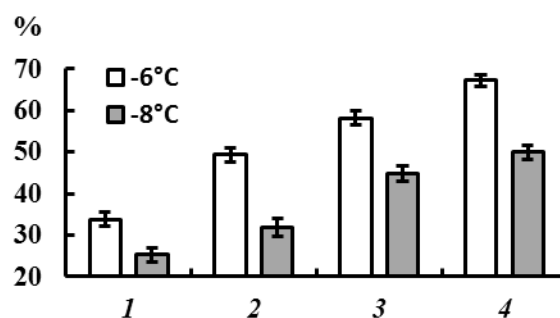


Рис. 2. Влияние комбинированной обработки семян СК и НПН на выживание (%) закаленных проростков пшеницы после криостресса. 1 – контроль; 2 – СК (10 мкМ); 3 – НПН (100 мкМ); 4 – СК (10 мкМ) + НПН (100 мкМ).

ственный эффект проявлялся при использовании концентраций 10 и 100 мкМ.

Под влиянием НПН также происходило значительное повышение морозоустойчивости закаленных проростков (рис. 1б). Наиболее заметное действие донора оксида азота оказывал в концентрациях 100 и 200 мкМ.

При праймировании семян комбинацией салициловой кислоты (10 мкМ) и НПН (100 мкМ) отмечалось наиболее существенное повышение выживания закаленных проростков после промораживания при температурах -6 и $-8^\circ C$ (рис. 2).

Активность антиоксидантных ферментов в проростках пшеницы

Под влиянием закаливания проростков пшеницы отмечалось небольшое повышение активности СОД (рис. 3а). Предварительное праймирование семян салициловой кислотой не вызывало существенного изменения активности СОД у закаленных проростков. В то же время воздействие НПН приводило к увеличению активности СОД в закаленных проростках по сравнению с действием только закаливания.

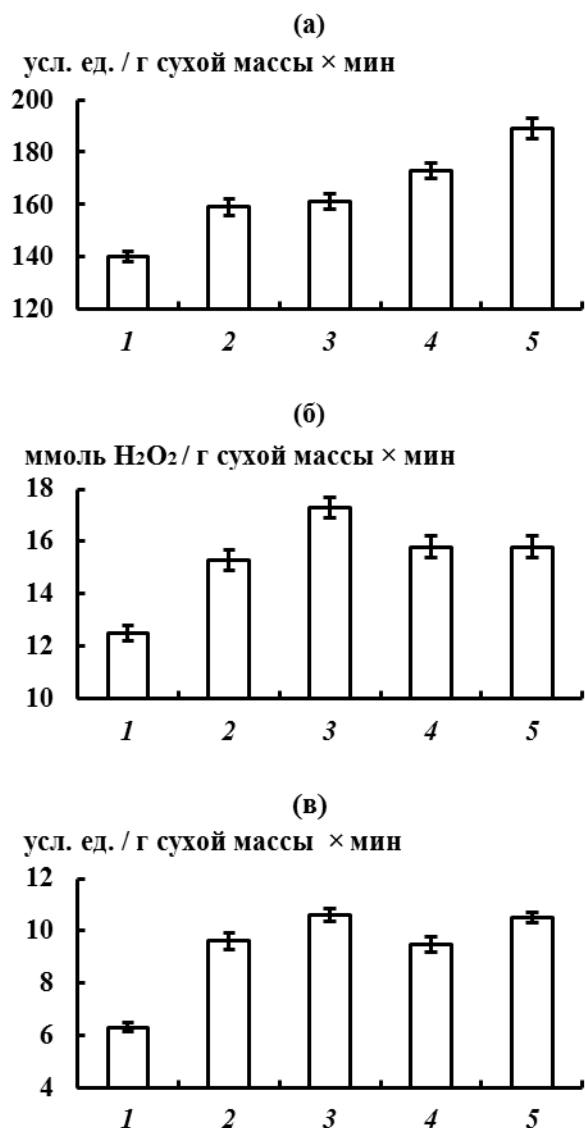


Рис. 3. Активность СОД (а), каталазы (б) и гваяколпероксидазы (в) в проростках пшеницы после холодого закаливания. 1 – контроль (без закаливания); 2 – контроль (закаливание); 3 – закаливание + СК (10 мкМ); 4 – закаливание + НПН (0,1 мМ); 5 – закаливание + СК (10 мкМ) + НПН (100 мкМ).

Еще более существенный эффект отмечался при праймировании семян комбинацией НПН и салициловой кислоты.

Активность каталазы в проростках под влиянием закаливания увеличивалась (рис. 3б). Праймирование семян салициловой кислотой вызывало небольшое дополнительное увеличение активности фермента в проростках после закаливания (эффект был достоверным при $P \leq 0,1$). Активность каталазы в закаленных проростках, выращенных из семян, обработанных НПН, существенно не отличалась от таковой в проростках, подвергнутых только закали-

ванию. Не наблюдали дополнительного увеличения активности каталазы и в закаленных проростках, которые выращивали из семян, праймированных комбинацией растворов салициловой кислоты и донора оксида азота НПН.

Под влиянием закаливания происходило повышение активности гваяколпероксидазы в проростках (рис. 3в). Предварительная обработка семян салициловой кислотой приводила к дополнительному увеличению активности фермента. В варианте с праймированием НПН, а также его комбинацией с салициловой кислотой, активность гваяколпероксидазы у закаленных проростков достоверно не отличалась от таковой в варианте с одним закаливающим воздействием.

Содержание низкомолекулярных протекторов

Под влиянием закаливания проростков отмечалось значительное накопление пролина (рис. 4). Сочетание праймирования семян салициловой кислотой с воздействием закаливания вызывало дополнительное повышение содержания пролина. Такой же эффект наблюдали при сочетании холодого закаливания с действием НПН. В варианте с комбинированным действием салициловой кислоты и НПН аддитивности их влияния на содержание пролина не наблюдали.

Содержание сахаров в проростках пшеницы после закаливания увеличивалось (рис. 4б). Обработка семян салициловой кислотой и особенно НПН также вызывала повышение содержания сахаров в проростках. Наиболее высоким оно было в проростках, выращенных из семян, обработанных комбинацией салициловой кислоты и донора NO.

ОБСУЖДЕНИЕ

Праймирование семян как салициловой кислотой, так и донором NO способствовало развитию морозоустойчивости проростков при холодом закаливании (рис. 1). Проростки, выращенные из семян, праймированных комбинацией салициловой кислоты и НПН в концентрациях, вызывающих максимальный эффект, после закаливания отличались наиболее высокой устойчивостью к действию отрицательных температур (рис. 2). Таким образом, отмечался эффект синергизма стресс-протекторного действия экзогенных салициловой кислоты и оксида азота.

Закаливание проростков пшеницы вызывало повышение активности всех трех изученных антиоксидантных ферментов: СОД, ката-

КОМБИНИРОВАННОЕ ВЛИЯНИЕ САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ

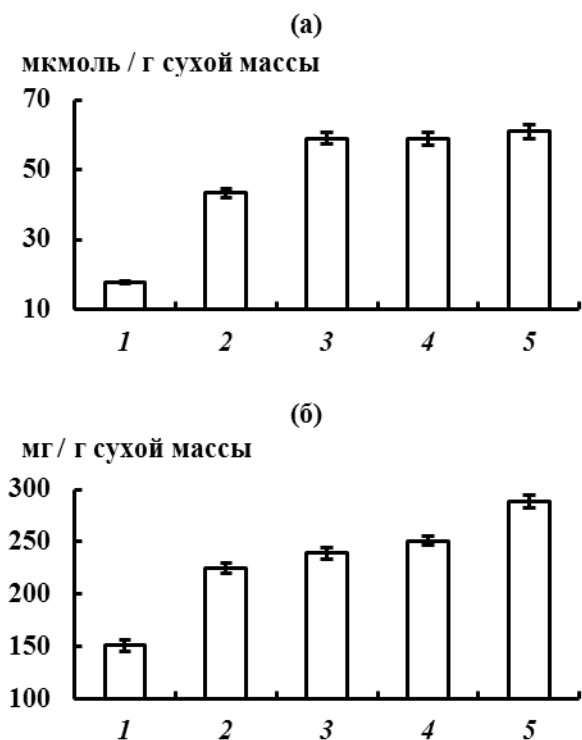


Рис. 4. Содержание пролина (а) и сахаров (б) в проростках пшеницы после холодого закаливания. 1 – контроль (без закаливания); 2 – контроль (закаливание); 3 – закаливание + СК (10 мкМ); 4 – закаливание + НПН (100 мкМ); 5 – закаливание + СК (10 мкМ) + НПН (100 мкМ).

лазы и гваяколпероксидазы. Прайминг семян салициловой кислотой способствовал дополнительному повышению только активности каталазы, а воздействие НПН только активности СОД (рис. 3). При комбинированной обработке семян салициловой кислотой и НПН отмечалось максимальное повышение активности СОД.

После холодого закаливания проростков содержание пролина в них увеличивалось более чем в два раза (рис. 4а). Предварительное воздействие как салициловой кислоты, так и донора оксида азота усиливало этот эффект. Однако при комбинированной обработке семян двумя праймирующими агентами эффект синергизма не наблюдали, содержание пролина в проростках этого варианта не отличалось от такового в вариантах с обработкой только салициловой кислотой или только НПН. В то же время наиболее существенному накоплению сахаров в проростках при закаливании способствовала именно комбинированная обработка семян салициловой кислотой и донором NO,

хотя и каждый праймирующий агент сам по себе в той или иной степени усиливал накопление сахаров в закаленных проростках (рис. 4б).

Полученные результаты в определенной степени согласуются с данными Esim и Atici (2015), в работе которых показано, что фолитарная обработка молодых растений сорта яровой пшеницы комбинацией салициловой кислоты и НПН способствовала более заметному повышению активности СОД и гваяколпероксидазы в листьях по сравнению с действием салицилата и донора оксида азота по отдельности. При этом комбинированная обработка указанными соединениями более заметно предотвращала эффект окислительного стресса (повышение содержания пероксида водорода и малонового диальдегида в проростках), вызываемый действием низких положительных температур (Esim, Atici, 2015). Эффект синергизма стресс-протекторного действия салициловой кислоты и донора оксида азота показан и на примере повышения ими устойчивости растений к засухе (Колупаев и др., 2018). При этом их протекторные эффекты проявлялись в модификации активности СОД, каталазы, гваяколпероксидазы, а также накопления пролина.

В настоящей работе впервые показано усиление положительного влияния на формирование морозоустойчивости проростков салициловой кислоты и донора оксида азота при их совместном применении. Одной из причин такого эффекта может быть дополнительное повышение активности ключевого антиоксидантного фермента СОД и активация накопления сахаров в варианте с одновременной обработкой семян салициловой кислотой и НПН. Усиление накопления сахаров при прорастании в условиях действия низких температур под влиянием салициловой кислоты отмечалось у проростков кукурузы (Ferooq et al., 2008), а накопления пролина – у растений шпината (Shin et al., 2018).

Вполне естественно, что протекторное действие салициловой кислоты и НПН, а также их комбинации не ограничивается только изменением изученных нами показателей активности антиоксидантных ферментов, накопления сахаров и пролина.

Одним из важных эффектов салициловой кислоты может быть усиление под ее влиянием накопления в проростках белков нуклеаторов образования внеклеточного льда, что необходимо для предотвращения летального внутриклеточного льдообразования (Tasgin et al., 2003; Mutlu et al., 2013b). В работе Wang и соавт.

(2018) показана активация под влиянием салициловой кислоты экспрессии ряда генов, важных для холодной адаптации: *CBF1*, *COR14*, *CSI200*, *ABI5* и др. Оксид азота также участвует в регуляции экспрессии холодоустойчивых генов (*CBF1*, *CBF2*, *CBF3*, *LTI30*, *LTI178* и др.) (Puyaubert, Baudouin, 2014; Baudouin, Jeandroz, 2015).

Взаимное усиление стресс-протекторных эффектов салициловой кислоты и донора NO может происходить, как минимум, за счет двух различных механизмов. Во-первых, спектр «защитных» генов, на экспрессию которых прямо или опосредованно влияют салициловая кислота и оксид азота, может отличаться. В связи с этим при их совместном действии возможно расширение спектра активируемых защитных реакций. Также следует отметить, что оксид азота может оказывать влияние не только на работу сигнальной сети и экспрессию определенных генов, но и взаимодействовать с целевыми белками непосредственно, например, с молекулами антиоксидантных ферментов путем их S-нитрозилирования или нитрования и тем самым модифицировать их активность (Aroga et al., 2016). С другой стороны, оксид азота может быть посредником в реализации физиологических эффектов салициловой кислоты. Как уже отмечалось, индуцируемое салициловой кислотой повышение устойчивости растений шпината к действию отрицательных температур подавлялось сквенджером NO. В их присутствии не происходило индуцируемого салицилатом накопления пролина и аскорбиновой кислоты в тканях (Shin et al., 2018). В работе Alavi и соавт. (2014) показано, что обработка проростков пшеницы салициловой кислотой и донором оксида азота НПН повышала их устойчивость к осмотическому стрессу, вызываемому действием ПЭГ. В стрессовых условиях оба соединения способствовали накоплению биомассы растений и повышению содержания хлорофилла. При этом положительные эффекты салициловой кислоты и НПН устранялись поглотителем NO метиленовым синим. Обработка салициловой кислотой повышала солеустойчивость растений риса, что проявлялось в увеличении содержания аскорбиновой кислоты, активности каталазы, глутатион-S-трансферазы и глутатионпероксидазы (Mostofa et al., 2015). Такие эффекты устранялись обработкой растений сквенджером NO гемоглобином, что свидетельствует о роли оксида азота как посредника в реализации защитного действия салицилата. Возможно, что в условиях наших экспериментов обработка семян донором NO способ-

ствовала формированию сигналов, посредством которых реализуется стресс-протекторное действие салициловой кислоты.

Таким образом, комбинированное использование салициловой кислоты и доноров оксида азота для прайминга семян пшеницы можно рассматривать как перспективный прием повышения устойчивости растений к гипотермии и другим стресс-факторам, по крайней мере, на ранних фазах развития. При этом совместное действие фитогормона и сигнального посредника может усиливать их физиологические эффекты. Вполне естественно, что практическому их использованию должны предшествовать достаточно глубокие исследования механизмов комбинированного стресс-протекторного действия салициловой кислоты и донора NO. При этом необходимо учитывать возможную видоспецифичность эффектов этих физиологически активных веществ. Как уже отмечалось, на растениях отдельных видов показано не только отсутствие стресс-протекторных эффектов салициловой кислоты, но и усиление их повреждений ее умеренными дозами (Wang et al., 2009).

Работа выполнена в рамках проекта «Роль сигнальных посредников и соединений с гормональной активностью в формировании адаптивных реакций растений на абиотические стрессоры», финансируемого за счет средств государственного бюджета Украины (№ госрегистрации 0117U002427).

ЛИТЕРАТУРА

- Евдокимова О.В., Кабашникова Л.Ф., Савченко Г.Е. 2014. Содержание салициловой кислоты и активных форм кислорода в листьях ячменя (*Hordeum vulgare*) при обработке салицилатами. Весті НАН Беларусі, сер. біял. навук. 3 : 57-62.
- Карпец Ю.В., Колупаев Ю.Е., Косаковская И.В. Оксид азота и пероксид водорода как сигнальные посредники при индуцировании теплоустойчивости проростков пшеницы экзогенными жасмоновой и салициловой кислотами. Физиология растений и генетика. 2016. 48 (2) : 158-166.
- Колупаев Ю.Е., Карпец Ю.В., Ястреб Т.О., Луговая А.А. 2018. Комбинированное влияние салициловой кислоты и донора оксида азота на стресс-протекторную систему растений пшеницы в условиях засухи. Прикл. биохимия и микробиология. 54 (4) : 400-407.
- Колупаев Ю.Е., Рябчун Н.И., Вайнер А.А., Ястреб Т.О., Обозный А.И. 2015. Активность антиоксидантных ферментов и содержание осмолитов в проростках озимых злаков при закаливании

КОМБИНИРОВАННОЕ ВЛИЯНИЕ САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ

- и криострессе. Физиология растений. 63 (4) : 533-541.
- Пашкевич Л. В., Кабашникова Л. Ф. 2018. Роль салициловой кислоты в формировании системной приобретенной устойчивости растений при патогенезе. Вісн. Харків. нац. ун-ту. Серія Біологія. 3 (45) : 31-48.
- Холопцева Е.С., Игнатенко А.А., Репкина Н.С., Таланова В.В. 2019. Особенности реакции растений пшеницы на кратковременное и продолжительное действие салициловой кислоты в условиях оптимальной и низкой температуры. Тр. Карельск. научн. центра РАН. 12: 19-30.
- Agarwal S., Sairam R.K., Srivastava G.C., Meena R.C. 2005. Changes in antioxidant enzymes activity and oxidative stress by abscisic acid and salicylic acid in wheat genotypes. Biol. Plant. 49 : 541-550.
- Alavi S.M.N., Arvin M.J., Kalantari K.M. Salicylic acid and nitric oxide alleviate osmotic stress in wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings. J. Plant Interact. 2014. 9 (1) : 683-688.
- Arora D., Jain P., Singh N., Kaur H., Bhatla S.C. 2016. Mechanisms of nitric oxide crosstalk with reactive oxygen species scavenging enzymes during abiotic stress tolerance in plants. Free Radical Res. 50 : 291-303.
- Bates L.S., Walden R.P., Tear G.D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant Soil. 39 : 205-210.
- Baudouin E., Jeandroz S. 2015. Nitric oxide as a mediator of cold stress response: a transcriptional point of view. In: Nitric Oxide Action in Abiotic Stress Responses in Plants. Eds. Khan M.N. et al. Switzerland : Springer International Publishing : 129-139.
- Esim N., Atici Ö. 2015. Effects of exogenous nitric oxide and salicylic acid on chilling-induced oxidative stress in wheat (*Triticum aestivum*). Front. Life Sci. 8 (2) : 124-130.
- Fan J., Chen K., Amombo E., Hu Z., Chen L., Fu J. 2015. Physiological and molecular mechanism of nitric oxide (NO) involved in bermudagrass response to cold stress. Plos ONE. doi: 10.1371/journal.pone.0132991
- Fancy N.N., Bahlmann A.K., Loake G.J. 2017. Nitric oxide function in plant abiotic stress. Plant Cell Environ. 40 (4) : 462-472.
- Farooq M., Aziz T., Basra S.M.A., Cheema M.A., Rehman H. 2008. Chilling tolerance in hybrid maize induced by seed priming with salicylic acid. J. Agron. Crop Sci. 194 : 161-168.
- Hamayun M., Khan A.L., Ahmad N., Lee I.J., Khan S.A., Shinwari Z.K. 2010. Effect of polyethylene glycol induced drought stress on physiological attributes of soybean. Pak. J. Bot. 42 (2) : 977-986.
- Hashempour A., Ghasemnezhad M., Fotouhi Ghazvini R., Sohani M.M. 2014. The physiological and biochemical responses to freezing stress of olive plants treated with salicylic acid. Russ. J. Plant Physiol. 61 (4) : 443-450.
- Horvath E., Szalai G., Janda T. 2007. Induction of abiotic stress tolerance by salicylic acid signaling. J. Plant Growth Regul. 26 : 290-300.
- Kim Y.S., Park S., Gilmour S.J., Thomashow M.F. 2013. Roles of CAMTA transcription factors and salicylic acid in configuring the low-temperature transcriptome and freezing tolerance of Arabidopsis. Plant J. 75 : 364-376.
- Majláth I., Szalai G., Janda T. 2011. Exploration of cold signalling related to ascorbate and salicylic acid in Arabidopsis thaliana. Acta Biol. Szeged. 55 (1) : 117-118.
- Min K., Showman L., Perera A., Arora R. 2018. Salicylic acid-induced freezing tolerance in spinach (*Spinacia oleracea* L.) leaves explored through metabolite profiling. Environ. Exp. Bot. 156 : 214-227.
- Miura K., Tada Y. 2014. Regulation of water, salinity, and cold stress responses by salicylic acid. Front. Plant Sci. 5 : 4 doi: 10.3389/fpls.2014.00004
- Mostofa M.G., Fujita M., Tran, L.S.P. 2015. Nitric oxide mediates hydrogen peroxide- and salicylic acid-induced salt tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) seedlings. Plant Growth Regul. 77 : 265-277.
- Mutlu S., Karadağoğlu Ö., Atici Ö., Nalbantoğlu B. 2013a. Protective role of salicylic acid applied before cold stress on antioxidative system and protein patterns in barley apoplast. Biol. Plant. 57 (3) : 507-513.
- Mutlu S., Karadağoğlu Ö., Atici Ö., Taşğın E., Nalbantoğlu B. 2013b. Time-dependent effect of salicylic acid on alleviating cold damage in two barley cultivars differing in cold tolerance. Turk. J. Bot. 37 : 343-349.
- Pal M., Gondor O.K., Janda T. 2013. Role of salicylic acid in acclimation to low temperature. Acta Agron. Hung. 61 (2) : 161-172.
- Peleg-Grossman S., Melamed-Book N., Levine A. 2012. ROS production during symbiotic infection suppresses pathogenesis-related gene expression. Plant Signaling Behav. 7 : 409-415.
- Puyaubert J., Baudouin E. 2014. New clues for a cold case: nitric oxide response to low temperature. Plant Cell Environ. 37 : 2623-2630.
- Shakirova F.M., Sakhabutdinova A.R., Bezrukova M.V., Fatkhutdinova R., Fatkhutdinova D. 2003. Changes in the hormonal status of wheat seedlings induced by salicylic acid and salinity. Plant Sci. 164 : 317-322.
- Shakirova F.M., Bezrukova M.V., Maslennikova D.R. 2013. Endogenous ABA as a hormonal intermediate

- in the salicylic acid induced protection of wheat plants against toxic. In: *Salicylic Acid*. Eds. Hayat S. et al. Dordrecht : Springer Science+Business Media : 119-140.
- Shakirova F.M., Allagulova Ch.R., Maslennikova D.R., Klyuchnikova E.O., Avalbaev A.M., Bezrukova M.V. 2016. Salicylic acid-induced protection against cadmium toxicity in wheat plants. *Environ. Exp. Bot.* 122 : 19-28.
- Shin H., Min K., Arora R. 2018. Exogenous salicylic acid improves freezing tolerance of spinach (*Spinacia oleracea* L.) leaves. *Cryobiology*. 81 : 192-200.
- Song F., Goodman R.M. 2001. Activity of nitric oxide is dependent on, but is partially required for function of, salicylic acid in the signaling pathway in tobacco systemic acquired resistance. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 14 (12) : 1458-1462.
- Tasgin E., Atici O., Nalbantoglu B. 2003. Effects of salicylic acid and cold on freezing tolerance in winter wheat leaves. *Plant Growth Regul.* 41 : 231-236.
- Wang D.H., Li X.X., Su Z.K., Ren H.X. 2009. The role of salicylic acid in response of two rice cultivars to chilling stress. *Biol. Plant.* 53 (3) : 545-552.
- Wang W., Wang X., Huang M., Cai J., Zhou Q., Dai T., Cao W., Jiang D. 2018. Hydrogen peroxide and abscisic acid mediate salicylic acid-induced freezing tolerance in wheat. *Front. Plant Sci.* 3 (9) : 1137. doi: 10.3389/fpls.2018.01137
- Yemets A.I., Karpets Yu.V., Kolupaev Yu.E., Blume Ya.B. 2019. Emerging technologies for enhancing ROS/RNS homeostasis. In: *Reactive Oxygen, Nitrogen and Sulfur Species in Plants: Production, Metabolism, Signaling and Defense Mechanisms*. V. 2. Eds. Hasanuzzaman M. et al. John Wiley & Sons Ltd. : 873-922.
- Yordanova R., Popova L. 2007. Effect of exogenous treatment with salicylic acid on photosynthetic activity and antioxidant capacity of chilled wheat plants. *Gen. Appl. Plant Physiol.* 33 (3-4) : 155-170.
- REFERENCES**
- Evdokimova O.V., Kabashnikova L.F., Savchenko G.E. 2014. Salicylic acid and reactive oxygen species content in leaves barley (*Hordeum vulgare*) at salicylates treatments. *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus, Biological Series*. 3 : 57-62. (In Russian).
- Karpets Yu.V., Kolupaev Yu.E., Kosakivska I.V. 2016. Nitric oxide and hydrogen peroxide as signal mediators at induction of heat resistance of wheat plantlets by exogenous jasmonic and salicylic acids. *Fiziol. rast. genet.* 48 (2) :158-166. (In Russian).
- Kolupaev Yu.E., Karpets Yu.V., Yastreb T.O., Lugovaya A.A. 2018. Combined effect of salicylic acid and nitrogen oxide donor on stress-protective system of wheat plants under drought conditions. *Appl. Biochem. Microbiol.* 54 (4) : 418-424.
- Kolupaev Yu.E., Ryabchun N.I., Vayner A.A., Yastreb T.O., Oboznyi A.I. 2015. Antioxidant enzyme activity and osmolyte content in winter cereal seedlings under hardening and cryostress. *Russ. J. Plant Physiol.* 62 (4) : 499-506.
- Pashkevich L.V., Kabashnikova L.F. 2018. Role of salicylic acid in formation of system acquired resistance of plants at pathogenesis. *Visn. Hark. nac. agrar. univ., Ser. Biol.* 3 (45) : 31-48. (In Russian).
- Kholoptseva E.S., Ignatenko A.A., Repkina N.S., Talanova V.V. 2019. Characteristics of wheat plant responses to short-term and prolonged exposure to salicylic acid under optimal and low temperature. *Trudy Karel'skogo nauchnogo centra RAN.* 12: 19-30. (In Russian).
- Agarwal S., Sairam R.K., Srivastava G.C., Meena R.C. 2005. Changes in antioxidant enzymes activity and oxidative stress by abscisic acid and salicylic acid in wheat genotypes. *Biol. Plant.* 49 : 541-550.
- Alavi S.M.N., Arvin M.J., Kalantari K.M. Salicylic acid and nitric oxide alleviate osmotic stress in wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings. *J. Plant Interact.* 2014. 9 (1) : 683-688.
- Arora D., Jain P., Singh N., Kaur H., Bhatla S.C. 2016. Mechanisms of nitric oxide crosstalk with reactive oxygen species scavenging enzymes during abiotic stress tolerance in plants. *Free Radical Res.* 50 : 291-303.
- Bates L.S., Walden R.P., Tear G.D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant Soil.* 39 : 205-210.
- Baudouin E., Jeandroz S. 2015. Nitric oxide as a mediator of cold stress response: a transcriptional point of view. In: *Nitric Oxide Action in Abiotic Stress Responses in Plants*. Eds. Khan M.N. et al. Switzerland : Springer International Publishing : 129-139.
- Esim N., Atici Ö. 2015. Effects of exogenous nitric oxide and salicylic acid on chilling-induced oxidative stress in wheat (*Triticum aestivum*). *Front. Life Sci.* 8 (2) : 124-130.
- Fan J., Chen K., Amombo E., Hu Z., Chen L., Fu J. 2015. Physiological and molecular mechanism of nitric oxide (NO) involved in bermudagrass response to cold stress. *Plos ONE*. doi: 10.1371/journal.pone.0132991
- Fancy N.N., Bahlmann A.K., Loake G.J. 2017. Nitric oxide function in plant abiotic stress. *Plant Cell Environ.* 40 (4) : 462-472.
- Farooq M., Aziz T., Basra S.M.A., Cheema M.A., Rehman H. 2008. Chilling tolerance in hybrid maize induced by seed priming with salicylic acid. *J. Agron. Crop Sci.* 194 : 161-168.

КОМБИНИРОВАННОЕ ВЛИЯНИЕ САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ

- Hamayun M., Khan A.L., Ahmad N., Lee I.J., Khan S.A., Shinwari Z.K. 2010. Effect of polyethylene glycol induced drought stress on physiological attributes of soybean. *Pak. J. Bot.* 42 (2) : 977-986.
- Hashempour A., Ghasemzhad M., Fotouhi Ghazvini R., Sohani M.M. 2014. The physiological and biochemical responses to freezing stress of olive plants treated with salicylic acid. *Russ. J. Plant Physiol.* 61 (4) : 443-450.
- Horvath E., Szalai G., Janda T. 2007. Induction of abiotic stress tolerance by salicylic acid signaling. *J. Plant Growth Regul.* 26 : 290-300.
- Kim Y.S., Park S., Gilmour S.J., Thomashow M.F. 2013. Roles of CAMTA transcription factors and salicylic acid in configuring the low-temperature transcriptome and freezing tolerance of *Arabidopsis*. *Plant J.* 75 : 364-376.
- Majláth I., Szalai G., Janda T. 2011. Exploration of cold signalling related to ascorbate and salicylic acid in *Arabidopsis thaliana*. *Acta Biol. Szeged.* 55 (1) : 117-118.
- Min K., Showman L., Perera A., Arora R. 2018. Salicylic acid-induced freezing tolerance in spinach (*Spinacia oleracea* L.) leaves explored through metabolite profiling. *Environ. Exp. Bot.* 156 : 214-227.
- Miura K., Tada Y. 2014. Regulation of water, salinity, and cold stress responses by salicylic acid. *Front. Plant Sci.* 5 : 4 doi: 10.3389/fpls.2014.00004
- Mostofa M.G., Fujita M., Tran, L.S.P. 2015. Nitric oxide mediates hydrogen peroxide- and salicylic acid-induced salt tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) seedlings. *Plant Growth Regul.* 77 : 265-277.
- Mutlu S., Karadağoğlu Ö., Atici Ö., Nalbantoğlu B. 2013a. Protective role of salicylic acid applied before cold stress on antioxidative system and protein patterns in barley apoplast. *Biol. Plant.* 57 (3) : 507-513.
- Mutlu S., Karadağoğlu Ö., Atici Ö., Taşğın E., Nalbantoğlu B. 2013b. Time-dependent effect of salicylic acid on alleviating cold damage in two barley cultivars differing in cold tolerance. *Turk. J. Bot.* 37 : 343-349.
- Pal M., Gondor O.K., Janda T. 2013. Role of salicylic acid in acclimation to low temperature. *Acta Agron. Hung.* 61 (2) : 161-172.
- Peleg-Grossman S., Melamed-Book N., Levine A. 2012. ROS production during symbiotic infection suppresses pathogenesis-related gene expression. *Plant Signaling Behav.* 7 : 409-415.
- Puyaubert J., Baudouin E. 2014. New clues for a cold case: nitric oxide response to low temperature. *Plant Cell Environ.* 37 : 2623-2630.
- Shakirova F.M., Sakhabutdinova A.R., Bezrukova M.V., Fatkhutdinova R., Fatkhutdinova D. 2003. Changes in the hormonal status of wheat seedlings induced by salicylic acid and salinity. *Plant Sci.* 164 : 317-322.
- Shakirova F.M., Bezrukova M.V., Maslennikova D.R. 2013. Endogenous ABA as a hormonal intermediate in the salicylic acid induced protection of wheat plants against toxic. In: *Salicylic Acid*. Eds. Hayat S. et al. Dordrecht : Springer Science+Business Media : 119-140.
- Shakirova F.M., Allagulova Ch.R., Maslennikova D.R., Klyuchnikova E.O., Avalbaev A.M., Bezrukova M.V. 2016. Salicylic acid-induced protection against cadmium toxicity in wheat plants. *Environ. Exp. Bot.* 122 : 19-28.
- Shin H., Min K., Arora R. 2018. Exogenous salicylic acid improves freezing tolerance of spinach (*Spinacia oleracea* L.) leaves. *Cryobiology.* 81 : 192-200.
- Song F., Goodman R.M. 2001. Activity of nitric oxide is dependent on, but is partially required for function of, salicylic acid in the signaling pathway in tobacco systemic acquired resistance. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 14 (12) : 1458-1462.
- Tasgin E., Atici O., Nalbantoglu B. 2003. Effects of salicylic acid and cold on freezing tolerance in winter wheat leaves. *Plant Growth Regul.* 41 : 231-236.
- Wang D.H., Li X.X., Su Z.K., Ren H.X. 2009. The role of salicylic acid in response of two rice cultivars to chilling stress. *Biol. Plant.* 53 (3) : 545-552.
- Wang W., Wang X., Huang M., Cai J., Zhou Q., Dai T., Cao W., Jiang D. 2018. Hydrogen peroxide and abscisic acid mediate salicylic acid-induced freezing tolerance in wheat. *Front. Plant Sci.* 3 (9) : 1137. doi: 10.3389/fpls.2018.01137
- Yemets A.I., Karpets Yu.V., Kolupaev Yu.E., Blume Ya.B. 2019. Emerging technologies for enhancing ROS/RNS homeostasis. In: *Reactive Oxygen, Nitrogen and Sulfur Species in Plants: Production, Metabolism, Signaling and Defense Mechanisms* V. 2. Eds. Hasanuzzaman M. et al. John Wiley & Sons Ltd. : 873-922.
- Yordanova R., Popova L. 2007. Effect of exogenous treatment with salicylic acid on photosynthetic activity and antioxidant capacity of chilled wheat plants. *Gen. Appl. Plant Physiol.* 33 (3-4) : 155-170.

Поступила в редакцию
25.01.2020 г.

**COMBINED EFFECT OF SALICYLIC ACID AND NITRIC OXIDE DONOR
ON DEVELOPMENT OF HARDENING-INDUCED FROST RESISTANCE
OF WHEAT SEEDLINGS**

E. I. Horielova¹, M. A. Shkliarevskiy¹, N. I. Ryabchun²,
L. F. Kabashnikova³, Yu. E. Kolupaev^{1,4}

¹*Dokuchaev Kharkiv National Agrarian University
(Kharkiv, Ukraine)
E-mail: plant_biology@ukr.net*

²*Yurjev Plant Production Institute
of National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine
(Kharkiv, Ukraine)*

³*Institute of Biophysics and Cell Engineering
of National Academy of Sciences of Belarus
(Minsk, Belarus)*

⁴*Karazin Kharkiv National University
(Kharkiv, Ukraine)*

It is known that salicylic acid and nitric oxide (NO) are involved in the formation of many adaptive reactions of plants to action of stressors of various natures. There is data that treatment of plants with salicylic acid and nitric oxide donors increases their resistance to low positive temperatures. At the same time, their effect on the resistance of plants to cryostress has been studied deficiently. It is known that some physiological effects of salicylic acid are realized with the participation of NO as a signaling mediator. However, the combined effect of salicylic acid and NO donors on physiological processes responsible for the formation of frost resistance has not been studied yet. We investigate the influence of priming of wheat seed (*Triticum aestivum* L.) with salicylic acid and NO donor – sodium nitroprusside (SNP) – separately and together on the formation of frost resistance of etiolated wheat seedlings during hardening at 2-4°C. The increase of the seedlings survival after freezing at –6 and –8°C under the influence of salicylic acid and SNP has been shown. The protective effect of the mutual treatment of wheat seeds with salicylic acid (10 μM) and SNP (100 μM) has been more noticeable. Cold hardening of seedlings, as well as the preliminary treatment of seeds with salicylic acid, caused an increase in the activity of superoxide dismutase (SOD), catalase and guaiacol peroxidase, the content of proline and sugars in the seedlings' tissues. The priming of seed with SNP contributed to an increase in the SOD and catalase activity in wheat seedlings, and in the proline and sugars content. An additional increase in SOD activity and sugars content in seedlings with the combined use of salicylic acid and SNP has been noted. Possible causes of the enhancement of stress-protective effects of salicylic acid and NO donor with their combined action has been discussed.

Key words: *Triticum aestivum*, salicylic acid, nitric oxide, frost resistance, antioxidant system, osmolytes

КОМБИНИРОВАННОЕ ВЛИЯНИЕ САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ

КОМБІНОВАНИЙ ВПЛИВ САЛІЦИЛОВОЇ КИСЛОТИ І ДОНОРА ОКСИДУ АЗОТУ НА РОЗВИТОК ІНДУКОВАНОЇ ЗАГАРТУВАННЯМ МОРОЗОСТІЙКОСТІ ПРОРОСТКІВ ПШЕНИЦІ

О. І. Горелова¹, М. А. Шкляревський¹, Н. І. Рябчун²,
Л. Ф. Кабашникова³, Ю. Є. Колупаєв^{1,4}

¹Харківський національний аграрний університет ім. В.В. Докучаєва
(Харків, Україна)

E-mail: plant_biology@ukr.net

²Інститут рослинництва ім. В.Я. Юр'єва
Національної академії аграрних наук України
(Харків, Україна)

³Інститут біофізики і клітинної інженерії
Національної академії наук Білорусі
(Мінськ, Білорусь)

⁴Харківський національний університет ім. В.Н. Каразіна
(Харків, Україна)

Відомо, що саліцилова кислота і оксид азоту (NO) задіяні у формуванні багатьох адаптивних реакцій рослин на дію стресорів різної природи. Є відомості про те, що обробка рослин саліциловою кислотою і донорами оксиду азоту може призводити до підвищення їх стійкості до дії низьких позитивних температур. Разом з тим, їх вплив на стійкість рослин до кріостресу досліджено недостатньо. Відомо, що деякі фізіологічні ефекти саліцилової кислоти реалізуються за участю NO як сигнального посередника. Однак спільна дія саліцилової кислоти і донорів NO на фізіологічні процеси, що зумовлюють формування морозостійкості, дотепер не вивчалася. Досліджували вплив праймінгу насіння озимої пшениці (*Triticum aestivum* L.) саліциловою кислотою і донором NO нітропрусидом натрію (НПН) окремо і спільно на формування морозостійкості етіюльованих проростків пшениці при їх загартуванні за температури 2-4°C. Показано підвищення виживаності проростків після проморожування при - 6 і - 8°C під впливом саліцилової кислоти і НПН. Ще помітнішим був протекторний ефект спільної обробки насіння саліциловою кислотою (10 мкМ) і НПН (100 мкМ). Холодове загартування проростків, а також попередня обробка насіння саліциловою кислотою, спричиняли підвищення активності супероксиддисмутази (СОД), каталази і гваяколпероксидази, вмісту проліну та цукрів у тканинах проростків. Праймінг насіння НПН сприяв підвищенню в проростках пшениці активності СОД і каталази, вмісту проліну та цукрів. При комбінованому використанні саліцилової кислоти і НПН в проростках відзначалося додаткове підвищення активності СОД і вмісту цукрів. Обговорюються можливі причини посилення стрес-протекторного впливу саліцилової кислоти і донора NO за їх спільної дії.

Ключові слова: *Triticum aestivum*, саліцилова кислота, оксид азоту, морозостійкість, антиоксидантна система, осмоліти